

褪黑素处理对草地早熟禾抗盐性的影响

张玉娟,崔林雨,张佳能,马晖玲,董文科*

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】探究外源褪黑素对草地早熟禾(*Poa pratensis*)抗盐性的调节作用。【方法】以草地早熟禾品种帝国为试验材料,测定浸种和外施褪黑素2种方法对种子萌发特性的影响,采用叶施和根施不同浓度褪黑素溶液处理幼苗,研究其对草地早熟禾生长和生理特性的影响。【结果】浸种和外施褪黑素处理分别在其浓度为50、200 $\mu\text{mol/L}$ 时对盐胁迫下的草地早熟禾种子萌发效果最好;当褪黑素浓度为100、200 $\mu\text{mol/L}$ 时能够显著促进盐胁迫下草地早熟禾幼苗和根系的生长,积累幼苗干物质和相对含水量,增加幼苗叶绿素含量,降低幼苗相对电导率和丙二醛含量,使得幼苗脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量上升,并且在该浓度下叶施处理的效果更佳。【结论】浓度为100、200 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素溶液可以有效缓解盐胁迫对草地早熟禾幼苗的伤害,提高草地早熟禾的抗盐性。

关键词:褪黑素;草地早熟禾;抗盐性;萌发特性;生长和生理指标;综合分析

中图分类号:S688.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2025)02-0196-10

DOI:10.13817/j.cnki.cyycp.2025.02.022



草地早熟禾(*Poa pratensis*)是多年生冷季型禾本科植物,广泛分布于世界寒带和温带的冷凉湿润区,是天然草原与草甸禾本科牧草的主要组成之一^[1]。同时,草地早熟禾是典型的根茎—疏丛型禾草,具有生物量大、抗逆性强、绿期长、草姿优美和耐践踏等特点,是我国北方地区建植不同功能草坪绿地的首选材料^[2]。土壤盐渍化严重影响草坪草的生长和发育,在我国盐渍化土壤占全国可耕地面积的25%左右,并且广泛分布于西北、华北和滨海地区等^[3]。在盐渍化土地上建植的草坪极易出现秃斑,生长不良,秋季早衰,甚至大面积死亡等现象,增加了草坪的管理难度,降低了草坪坪用价值^[4]。前人研究发现,外源物 adhh 质

的添加可以缓解盐胁迫给草地早熟禾带来的伤害,如添加甜菜碱^[5],亚精胺^[6]和五氨基乙酰丙酸^[7]等。

褪黑素(Melatonin)化学名称为N-乙酰-5-甲氧基色胺($\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$),是普遍存在于动植物细胞体内中的一类吲哚胺类生长调节素,不仅易获得而且成本低廉^[8-9]。研究指出,褪黑素介导植物的生根、种子萌发、光合作用、开花和衰老等生理反应^[10-11]。前人研究发现,内源性诱导或外源性褪黑素的施加可提高植物对多种非生物胁迫的耐受性,如盐胁迫、干旱胁迫、重金属毒害、营养缺乏和紫外线辐射等^[12]。在盐胁迫发生时,添加褪黑素能够降低种子膜脂过氧化损伤,以此来保持种子发芽能力,减少植物叶片氧化损伤,提高叶片光合能力,增强植物的渗透调节物质,并诱导抗性基因的表达来加强植物的抗盐性^[13]。然而,目前有关盐胁迫下外源褪黑素对草地早熟禾的作用研究报道较少。因此,本试验通过研究盐胁迫下施加外源褪黑素后草地早熟禾种子的萌发指标,幼苗的生长指标和生理指标的变化,旨在为进一步研究褪黑素对草地早熟禾的逆境响应机制奠定理论基础。

收稿日期:2023-04-25;**修回日期:**2023-10-09

基金资助:国家自然科学基金项目(32201457);草业生态系统教育部重点实验室项目(甘肃农业大学)开放课题(KLGE202210)

作者简介:张玉娟(1997-),女,甘肃武威人,博士研究生,
E-mail:760759622@qq.com

*通信作者,研究方向为草种质资源及育种。

E-mail:dongwk2021@163.com

1 材料和方法

1.1 试验材料

选择草地早熟禾品种帝国 (*Poa pratensis* cv. Empire) 为供试材料, 种子由北京克劳沃草业有限公司提供。

1.2 试验设计

1.2.1 褪黑素对盐胁迫下种子萌发的影响 选择健康饱满的草地早熟禾种子, 经20%的NaClO消毒后用蒸馏水冲洗干净, 设定褪黑素溶液浓度为0、10、50、100、200、500 $\mu\text{mol/L}$ (均含100 mmol/L的NaCl)。采用培养皿法用外施和浸种2种不同的处理方式进行草地早熟禾种子萌发试验, 其中, 将4 mL不同浓度的褪黑素溶液施加至发芽床上模拟外施情况, 将消毒后的种子在不同浓度褪黑素溶液中浸泡24 h后置于加4 mL蒸馏水的发芽床进行浸种处理, 每皿种植50粒种子, 置于光照培养箱, 在昼夜温度25 $^{\circ}\text{C}$ /20 $^{\circ}\text{C}$ 、光照14 h/黑暗10 h的条件下培养21 d^[14], 期间每天观察种子发芽情况, 并用蒸馏水及时补充散失的水分以维持种子正常萌发, 以相同条件下的蒸馏水处理为对照(CK), 每个处理4次重复。

1.2.2 幼苗的培养 将消毒后的种子采用沙培法种植于含有灭菌的干净无杂质细沙的育苗钵(直径10 cm, 高15 cm), 放置于光照培养箱中进行幼苗培养, 培养条件参数设置为: 光照强度5 000 lx, 每天光照14 h, 昼/夜温度25 $^{\circ}\text{C}$ /20 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度60%~70%, 待种子发芽并长至1 cm时开始浇灌Hoagland营养液, 每7 d更换1次营养液, 全部幼苗长至10 cm左右间苗至每钵50株。幼苗培养40 d后进行叶施和根施2种不同方式的褪黑素处理, 叶施处理方法为用各浓度褪黑素溶液在每天暗期开始时对草地早熟禾幼苗叶片进行叶面喷施, 每天喷施1次, 连续喷施2 d, 期间正常浇水, 在第3天加入200 mmol/L的NaCl溶液胁迫7 d后采样, 在盐胁迫第4天时再喷施1次褪黑素溶液; 根施处理方法为用各浓度褪黑素溶液对幼苗进行根部浇灌, 每天浇灌1次, 连续浇灌2 d(浇灌量和喷施量保持一致), 2 d后, 加入盐胁迫溶液胁迫7天后采样, 中途在盐胁迫第4天再浇灌1次褪黑素溶液, 其他条件同叶施处理。以蒸馏水处理为对照(CK), 各处理分别设置每6钵幼苗为1个重复, 每个处理3次重复。

1.3 指标测定

1.3.1 萌发指标的测定 从播种第2天开始, 以胚芽为种子的1/2为标准, 统计各培养皿内草地早熟禾种子的发芽数, 记录至第21天结束, 并测定草地早熟禾胚芽长度(Plumule length, PL), 计算发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数^[14], 具体计算公式如下:

发芽势=试验初期(10 d)正常发芽种子数/供试种子数 $\times 100\%$;

发芽率=试验终期(21 d)全部正常发芽种子数/供试种子数 $\times 100\%$;

发芽指数= $\sum G_t/D_t$ (G_t : 第10 d开始的每日发芽数, D_t : 相应的发芽日数);

活力指数=发芽指数 $\times PL$ 。

1.3.2 生长指标的测定 从不同处理的育苗钵中随机取3株草地早熟禾幼苗, 用蒸馏水冲洗干净测量幼苗从根基部到叶尖的自然高度为株高, 从根基部到根尖的长度为根长^[15]。

用剪刀将各处理的幼苗取1.0 g左右, 用电子天平精确称量其鲜重(W_f), 将称取好的叶片放置含蒸馏水的烧杯中浸泡24 h后, 吸干表面多余的水分称量其饱和鲜重(W_t), 将吸水饱和的叶片放置于105 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱杀青30 min后用65 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重称量其干物质含量(W_d), 用以下公式计算叶片组织相对含水量(Relative water content, RWC)。

$$RWC = (W_f - W_d) / (W_t - W_d) \times 100\%$$

1.3.3 生理指标的测定 每个处理各称取新鲜叶片0.2 g用于叶绿素(Chlorophyll, Chl)和相对电导率(Relative electrical conductivity, REC)的测定, 其他测定指标所需叶片采集后在液氮中迅速冷冻, 储存在-80 $^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中备用。叶绿素含量采用乙醇提取法测定^[16]; 相对电导率采用电导仪法测定^[17]; 丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸显色法测定^[17]; 游离脯氨酸(Proline, Pro)含量采用茚基水杨酸提取法测定^[18]; 可溶性糖(Soluble sugars, SS)含量采用蒽酮比色法测定^[19]; 可溶性蛋白(Soluble protein, SP)含量采用考马斯亮蓝染色法测定^[19]。

1.4 数据分析

以不同浓度褪黑素处理后的草地早熟禾幼苗在盐胁迫下各项指标的最大值为参考序列 $x_0(k)$, 同时以

叶施和根施2种处理下各项指标的平均值为比较序列 $x_i(k)$,对数据进行归一化处理后计算灰色关联系数 $Z_i(k)$ 和关联度 $r_i(k)$,计算公式如下:

$$Z_i(k)=\frac{\min_i\min_k|x_0(\max_i\max_k)-x_i(k)|+\rho\max_i\max_k|x_0(k)-x_i(k)|}{|x_0(k)-x_i(k)|+\rho\max_i\max_k|x_0(k)-x_i(k)|};$$
$$r_i(k)=\frac{1}{n}\sum_{k=1}^nZ_i(k)$$

式中:分辨系数 $\rho=0.5$; $\min_i\min_k|x_0(k)-x_0(k)|$ 为两级最小差; $\max_i\max_k|x_0(k)-x_0(k)|$ 为两级最大差。

用IBM SPSS Statistics 26.0软件进行统计分析,采用单因素ANOVA对多组样本进行分析处理,Duncan's新复极差法进行多重比较,并用独立样本 T 检验进行组内差异性分析;采用Microsoft Office 2016进行绘图与数据处理。

表1 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾萌发指标的影响

Table 1 Effect of melatonin treatment on germination indicators of *Poa pratensis* under salt stress

处理	褪黑素浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	发芽势/%	发芽率/%	发芽指数	活力指数
外施	CK	49.50±0.96 ^a	61.50±2.50 ^a	21.75±0.29 ^a	22.81±1.29 ^a
	0	30.00±2.94 ^c	53.00±1.29 ^b	17.91±0.35 ^{bc}	14.82±1.37 ^b
	10	30.00±2.58 ^c	51.50±2.63 ^b	16.99±0.53 ^{bc}	15.37±2.10 ^b
	50	38.50±2.87 ^b	51.00±3.11 ^b	18.31±1.33 ^b	21.21±0.84 ^a
	100	29.00±1.91 ^c	54.00±2.45 ^{ab}	16.44±0.73 ^{bc}	19.40±1.67 ^{ab}
	200	29.00±0.58 ^c	54.50±2.22 ^{ab}	17.93±0.58 ^{bc}	18.44±1.60 ^{ab}
	500	23.00±2.38 ^c	50.00±3.65 ^b	15.45±1.16 ^c	14.66±1.51 ^b
浸种	CK	50.50±0.96 ^a	64.00±2.71 ^a	21.84±0.57 ^a	25.07±1.25 ^a
	0	38.00±1.41 ^b	57.50±0.96 ^{ab}	19.22±0.35 ^b	15.37±1.34 ^{cd}
	10	25.00±1.73 ^c	46.50±2.63 ^c	14.63±0.90 ^{cd}	14.79±1.10 ^d
	50	25.00±2.65 ^c	59.50±1.71 ^{ab}	16.57±0.92 ^c	22.85±2.02 ^{ab}
	100	28.00±4.24 ^c	56.00±2.94 ^b	16.50±0.54 ^c	21.47±2.70 ^{abc}
	200	24.50±2.06 ^c	49.00±2.38 ^c	14.21±0.27 ^{cd}	15.28±1.62 ^{cd}
	500	21.50±4.27 ^c	44.00±2.16 ^c	13.67±1.32 ^d	16.74±3.10 ^{bcd}

注:同列不同小写字母表示不同浓度之间差异显著($P<0.05$)。

2.2 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗生长指标的影响

2.2.1 对株高和根长的影响 未经盐胁迫处理和褪黑素处理的草地早熟禾(CK)株高在根施和叶施处理下均显著高于盐胁迫和褪黑素处理($P<0.05$),即盐胁迫使得幼苗株高显著下降,但随着褪黑素浓度的增加,草地早熟禾株高呈先上升后下降的趋势,且叶施和根施处理分别在其浓度为200 $\mu\text{mol/L}$ 和100 $\mu\text{mol/L}$ 时株高达到最大,分别是褪黑素浓度为0

2 结果与分析

2.1 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾萌发的影响 草地早熟禾种子在蒸馏水对照(CK)下的萌发指标均显著高于其他处理($P<0.05$),未经褪黑素处理时经过浸种处理的发芽率、发芽势和发芽指数均高于外施处理。随着褪黑素溶液浓度的增加,2种不同的种子处理方式下的萌发指标均呈先上升后下降的趋势,其中外施处理在褪黑素浓度为50 $\mu\text{mol/L}$ 时发芽势、发芽指数和活力指数达到最大,并且该浓度下的发芽势高于其他褪黑素浓度处理,在褪黑素浓度为200 $\mu\text{mol/L}$ 时发芽率达到最大;浸种处理在褪黑素浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时发芽势达到最大,在褪黑素浓度为50 $\mu\text{mol/L}$ 时发芽率、发芽势和活力指数达到最大,但与褪黑素浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时差异不显著(表1)。

$\mu\text{mol/L}$ 时的1.06和1.09倍(图1-A)。随着褪黑素浓度的增加草地早熟禾的根长在两种施加方式下也呈先上升后下降的趋势并显著高于CK($P<0.05$),且均在200 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大(图1-B),另外,叶施处理下的根长在褪黑素浓度为50~500 $\mu\text{mol/L}$ 时均显著高于根施处理($P<0.05$)。

2.2.2 对干物质量和相对含水量的影响 在盐胁迫下随着褪黑素浓度的增加,草地早熟禾干物质量和相对含水量均呈先上升后下降的趋势,但其干物质量在

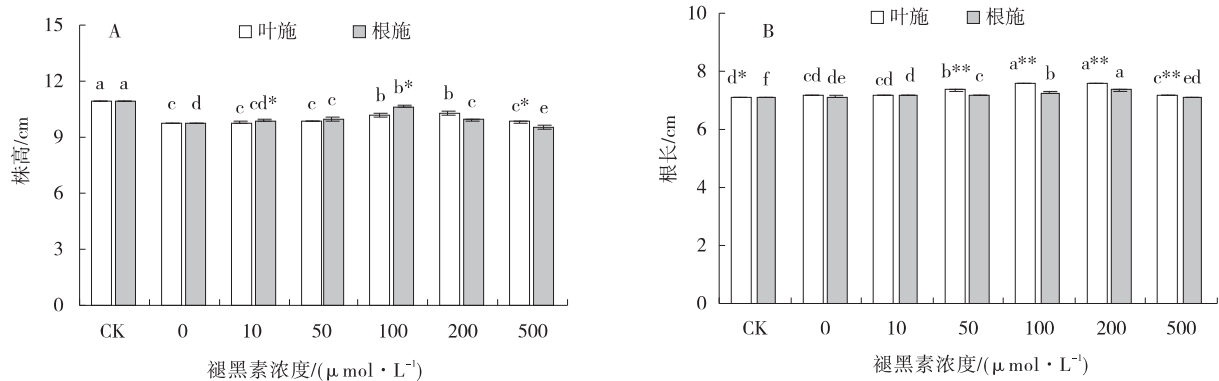


图 1 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾株高和根长的影响

Fig. 1 Effects of melatonin treatment on plant height and root length of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

注:不同小写字母表示同一处理方式下不同浓度之间差异显著($P<0.05$);*表示同一浓度下不同处理方式之间差异显著($P<0.05$),**表示差异极显著,下同。

2种施加方式处理下均显著低于CK($P<0.05$);经盐胁迫和褪黑素处理的草地早熟禾干物质质量在叶施处理下当褪黑素浓度为200 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大,而在根施处理下褪黑素浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大(图2-A)。此外,当褪黑素浓度为50~200 $\mu\text{mol/L}$ 时相对含

水量高于未经盐胁迫和褪黑素处理的蒸馏水对照(CK),并在褪黑素浓度为200 $\mu\text{mol/L}$ 时2种施加方式下的相对含水量均达到最大,且在此浓度下两种施加方式之间差异不显著(图2-B)。

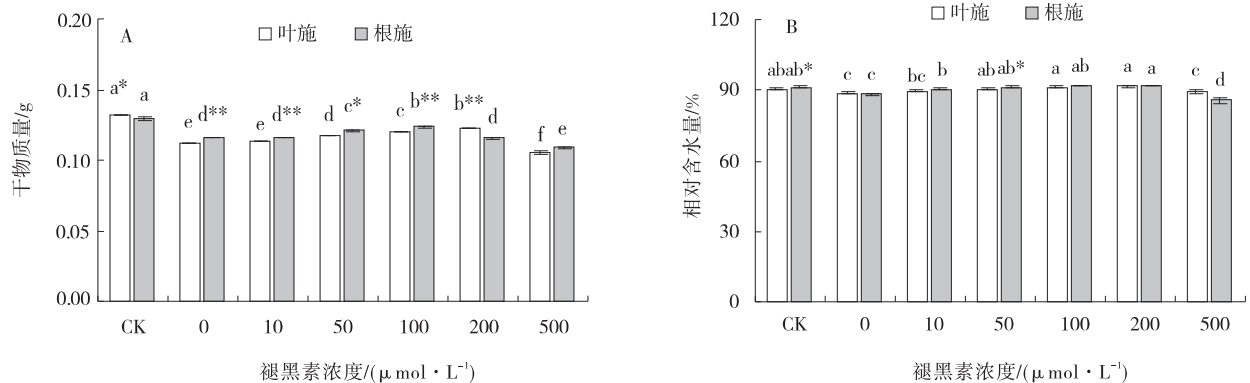


图 2 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾干物质质量和相对含水量的影响

Fig. 2 Effects of melatonin treatment on dry matter content and relative water content of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

2.3 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗生理特性的影响

2.3.1 对叶绿素含量的影响 与CK相比,盐胁迫使得草地早熟禾幼苗的叶绿素含量显著下降($P<0.05$),但在盐胁迫下随着褪黑素浓度的增加,幼苗叶绿素含量在叶施和根施两种方式下均呈先上升后下降的趋势,分别在褪黑素浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 和200 $\mu\text{mol/L}$ 时到达最大值,分别是褪黑素浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 时的1.25和1.30倍。并且,在褪黑素浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 时根施下的幼苗叶绿素含量高于叶施,但差异不显著,而在褪黑素浓度为10~200 $\mu\text{mol/L}$ 时,叶施下的叶绿素含量显著高于根施(图3)。

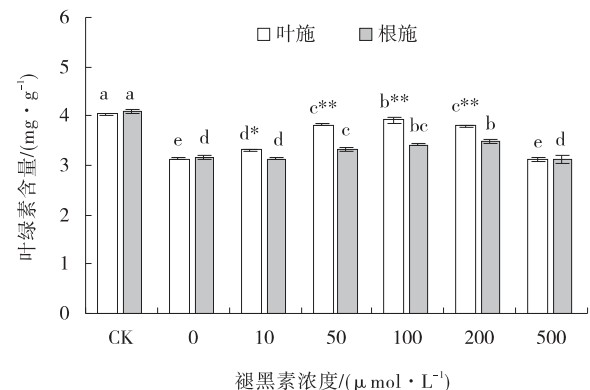


图 3 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effect of melatonin treatment on the chlorophyll content of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

2.3.2 对相对电导率的影响 未经盐胁迫和褪黑素处理的幼苗(CK)相对电导率在2种施加情况下均小于经盐胁迫和褪黑素处理,且两种施加方式下差异不显著,但随着褪黑素浓度的增加,叶施和根施2种施加方式下的幼苗相对电导率均呈先下降后上升的趋势,50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最小值。此外,在褪黑素浓度为0~500 $\mu\text{mol/L}$ 时根施下的相对电导率均高于叶施,且在浓度为10~50 $\mu\text{mol/L}$ 时达到显著水平,在浓度为100~500 $\mu\text{mol/L}$ 时差异显著 ($P < 0.05$) (图4)。

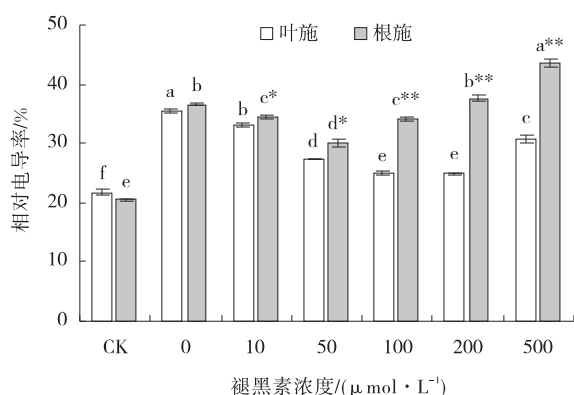


图4 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗相对电导率的影响

Fig. 4 Effect of melatonin treatment on the relative conductivity of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

2.3.3 对丙二醛含量的影响 盐胁迫使得草地早熟禾幼苗的MDA含量显著高于CK ($P < 0.05$),但随着盐胁迫下褪黑素浓度的增加,幼苗MDA含量在2种处理方式下均呈先降后升的趋势,且叶施和根施处理均在褪黑素浓度为200 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最小值,分别是CK的1.62和1.92倍,是褪黑素浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 时的0.55和0.66倍。此外,在褪黑素浓度为0~50 $\mu\text{mol/L}$ 时,叶施处理下的MDA含量显著高于根施 ($P < 0.05$),而在浓度为100~500 $\mu\text{mol/L}$ 时根施处理的MDA含量高于叶施,但差异不显著(图5)。

2.3.4 对脯氨酸含量的影响 草地早熟禾幼苗在盐胁迫下的脯氨酸含量较CK相比有上升趋势,且两种不同施加方式下的含量因褪黑素浓度的不同而有所差异,但整体均表现为先升后降,并均在褪黑素浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大值。此外,褪黑素浓度为10~50 $\mu\text{mol/L}$ 和 500 $\mu\text{mol/L}$ 时,幼苗的脯氨酸含量均表现为叶施处理显著高于根施 ($P < 0.05$),而在浓

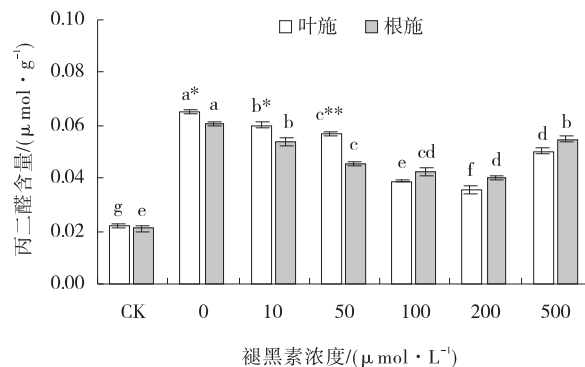


图5 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗丙二醛含量的影响

Fig. 5 Effect of melatonin treatment on the MDA content of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

度为100~200 $\mu\text{mol/L}$ 时根施下的含量高于叶施,但差异不显著(图6)。

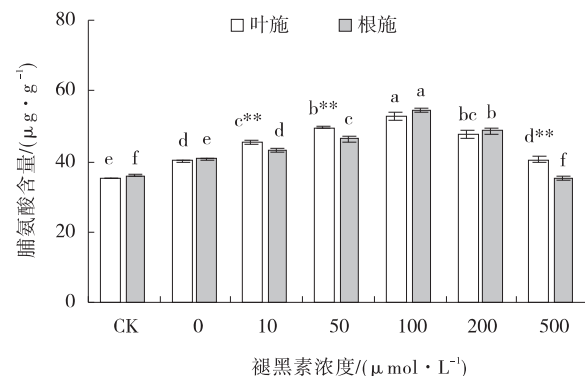


图6 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗脯氨酸含量的影响

Fig. 6 Effect of melatonin treatment on the Pro of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

2.3.5 对可溶性糖含量的影响 盐胁迫使得草地早熟禾幼苗的可溶性糖含量有所升高,且叶施处理下的可溶性糖含量显著高于CK ($P < 0.05$)。随着褪黑素浓度的增加,幼苗可溶性糖含量在盐胁迫下呈先升后降的趋势,并且在浓度为200 $\mu\text{mol/L}$ 时,2种施加方式下的可溶性糖含量均达到最大值,且在此浓度下叶施处理的含量显著高于根施处理 ($P < 0.05$)。但在褪黑素浓度为500 $\mu\text{mol/L}$ 时,根施处理下的可溶性糖含量显著低于相同处理的CK和褪黑素浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 时的含量,而叶施处理下的含量与褪黑素浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 时的含量无显著差异,且显著高于CK(图7)。

2.3.6 对可溶性蛋白含量的影响 盐胁迫下一定浓度的褪黑素在2种施加方式下均对草地早熟禾幼苗可

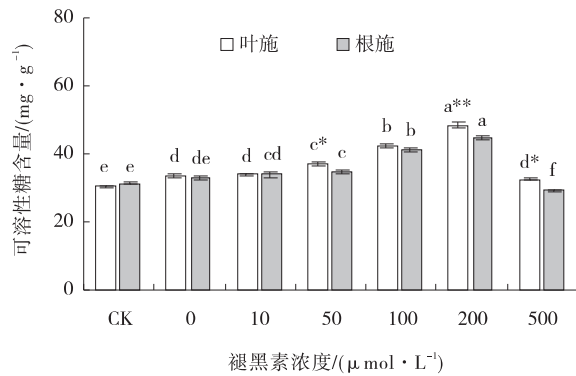


图 7 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗可溶性糖含量的影响

Fig. 7 Effect of melatonin treatment on the soluble sugar of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

溶性蛋白含量有一定的促进作用。盐胁迫下,当褪黑素浓度为 0~200 $\mu\text{mol/L}$ 时,在 2 种施加方式下的可溶性蛋白含量均显著高于 CK ($P < 0.05$),且叶施处理下的含量在其浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 达到最大,根施处理在其浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 达到最大。此外,在褪黑素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 和 100~500 $\mu\text{mol/L}$ 均表现为叶施处理的含量显著高于根施 ($P < 0.05$) (图 8)。

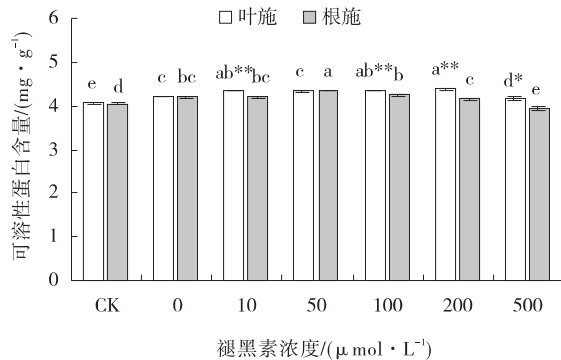


图 8 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗可溶性蛋白含量的影响

Fig. 8 Effect of melatonin treatment on the soluble protein of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

2.4 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗影响的综合分析

2.4.1 相关性分析 草地早熟禾幼苗 10 个指标间的相关性不同,结果表明不同浓度褪黑素处理后的幼苗在盐胁迫下其株高与根长、脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量之间的相关性未达到显著水平,但与其他指标之间呈极显著相关 ($P < 0.01$);根长与脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量之间呈极显著正相关 ($P < 0.01$),并与相对含水量和叶绿素含量呈显著正相关

($P < 0.05$);相对含水量与其他指标间均呈相关性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);但脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白与相对电导率、干物质质量、叶绿素和丙二醛含量间均无显著相关性(图 4)。因此,综合各指标间相关系数分析,褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗的主要影响指标有相对含水量、根长和株高等生长指标,其他各指标间相互作用影响幼苗生长发育。

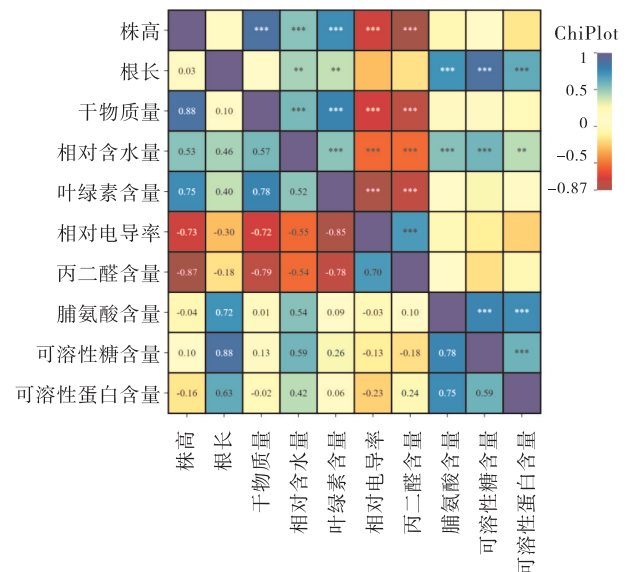


图 9 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗各项指标的相关性分析

Fig. 9 Correlation analysis of the melatonin treatment on various indicators of *Poa pratensis* seedlings under salt stress

注:***表示指标间极显著相关 ($P < 0.01$);**表示指标间显著相关 ($P < 0.05$)。

2.4.2 灰色关联度分析 通过对不同浓度褪黑素处理后的草地早熟禾幼苗在盐胁迫下的 10 个指标进行灰色关联分析,如表 2 所示,计算褪黑素浓度与各项指标间的关联系数和关联度,并对各项指标的关联度进行排序得出各指标与褪黑素浓度的密切关系依次为:相对含水量>可溶性蛋白>根长>株高>干物质质量>叶绿素>相对电导率>脯氨酸>可溶性糖>丙二醛。因此,在分析褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗的影响过程中可以优先考虑单株含水量,同时结合根长、株高和干物质质量,其次考虑细胞渗透调节相关指标,并依据测定目标选择相对应的指标。在上述得到的褪黑素浓度与各项指标间关联系数的基础上,计算不同浓度褪黑素溶液处理与盐胁迫下草地早熟禾幼苗的关联度,如图 10 所示,得到各浓度与幼苗

指标的密切关系依次为:100 $\mu\text{mol/L}$ >200 $\mu\text{mol/L}$ >50 $\mu\text{mol/L}$ >0 $\mu\text{mol/L}$ >10 $\mu\text{mol/L}$ >500 $\mu\text{mol/L}$ >CK。因此,褪黑素浓度为100、200 $\mu\text{mol/L}$ 时对盐胁迫下草地早熟禾幼苗的生长发育最佳,其次是褪黑素浓度为50 $\mu\text{mol/L}$,褪黑素浓度过高或过低均会对盐胁迫下幼苗的生长产生负面作用。

表2 褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗各项指标的灰色关联度分析

褪黑素浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	株高	根长	干物质质量	相对含水量	叶绿素	相对电导率	丙二醛	脯氨酸	可溶性糖	可溶性蛋白
CK	1.000 0	0.950 2	1.000 0	0.990 1	1.000 0	0.558 3	0.333 3	0.654 3	0.655 4	0.931 9
0	0.886 2	0.955 0	0.867 5	0.962 3	0.765 4	0.968 4	1.000 0	0.746 5	0.706 2	0.968 5
10	0.895 9	0.957 1	0.872 6	0.979 2	0.785 4	0.905 0	0.901 1	0.820 1	0.719 3	0.984 0
50	0.903 7	0.972 4	0.906 9	0.990 1	0.871 6	0.763 8	0.811 1	0.892 7	0.763 4	1.000 0
100	0.948 5	0.994 0	0.926 7	0.996 5	0.897 4	0.788 6	0.637 8	1.000 0	0.892 8	0.990 4
200	0.921 4	1.000 0	0.906 1	1.000 0	0.891 4	0.837 5	0.595 2	0.895 5	1.000 0	0.983 2
500	0.881 8	0.955 5	0.814 9	0.949 0	0.760 8	1.000 0	0.829 9	0.696 3	0.655 0	0.933 5
关联度	0.919 6	0.969 2	0.899 2	0.981 0	0.853 1	0.831 7	0.729 8	0.815 1	0.770 3	0.970 2
排序	4	3	5	1	6	7	10	8	9	2

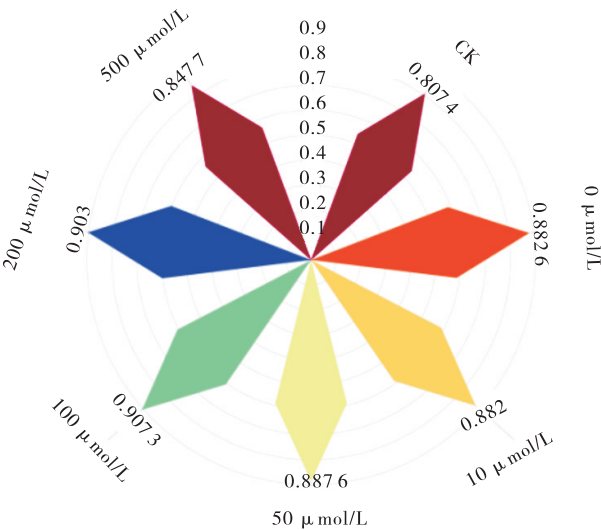


图10 不同浓度褪黑素处理对盐胁迫下草地早熟禾幼苗的灰色关联度分析

Fig. 10 Grey correlation analysis of different concentrations of the melatonin treatment on *Poa pratensis* seedlings under salt stress

3 讨论

盐胁迫是影响草地早熟禾生长发育的主要非生物胁迫因子之一,褪黑素作为一种生长调节素在一定程度上能够帮助植物抵御盐胁迫带来的危害。种子发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数是衡量种子发芽能力和种子活力的重要指标^[14]。本研究发现,经外施和浸种处理的草地早熟禾种子在盐胁迫下其萌发指标均有所下降,而一定浓度褪黑素的加入却使得种

子萌发指标有上升趋势。研究发现,盐胁迫会诱导多余活性氧的富集抑制种子萌发,但这种抑制作用可以被外源褪黑素通过调控活性氧的清除和激素的新陈代谢缓解^[20]。植物在生长初期对外界胁迫最为敏感,因此常用植物在逆境胁迫初期的生长状况作为评价其抗性的标准^[21]。向警等^[22]研究发现在NaCl胁迫下,添加不同浓度的褪黑素能够明显促进水稻(*Oryza sativa*)根和芽的生长,而且褪黑素对幼苗根的影响要比芽更明显。本研究也同样发现,两种施加方式下100 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素能够有效的缓解盐胁迫造成的损伤,且能够有效地增加草地早熟禾幼苗的根长;其可能原因是由于一定浓度的外源褪黑素能够诱导内源IAA生物的合成,从而触发根的生长^[23-24]。另外,本研究还发现,100、200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的褪黑素处理能够使得幼苗在盐胁迫下的干物质质量和相对含水量有显著增加。魏茜雅等^[25]的研究也同样发现褪黑素处理可以显著缓解盐胁迫对朝天椒(*Capsicum annuum* var. *conoides*)植株生长的不利影响,增加植株的物质积累能力。

叶绿素是植物叶片光合作用所必须的绿色色素,也是植物捕获光能并转化为能量的关键成分^[26]。研究发现,植物对盐胁迫高度敏感,盐胁迫会破坏植物的叶绿体结构,抑制叶绿体捕获光能用于光合作用^[27]。本研究发现,在盐胁迫下草地早熟禾幼苗叶绿素含量迅速下降,但通过施加一定浓度的褪黑素溶液

可以使得盐胁迫下叶绿素的含量上升,这与苏立娜等^[28]对紫花苜蓿的研究结果相似。Wang等^[29]的研究也指出褪黑素能够有效缓解盐胁迫下植物幼苗叶绿素的降解和光合作用的降低。盐离子胁迫往往最先被细胞膜感受到,相对电导率和MDA的高低表明了植物受盐胁迫后氧化损伤的严重程度^[8]。本研究发现,草地早熟禾在盐胁迫下相对电导率和MDA含量均高于CK,但经褪黑素溶液叶施处理后能够降低幼苗中这二者的含量。可能是因为褪黑素是一种高效的氧化产物及自由基清除剂,同时,褪黑素可通过提高相关酶活性并诱导其基因的表达从而使植物免受氧化损伤,提高植物对逆境的抵抗能力^[30-31]。Pro、可溶性糖和可溶性蛋白是植物细胞中3种常见的有机渗透调节物质^[32]。刘爱荣等^[33]通过对盐胁迫下盐芥(*Thellungiella halophila*)渗透调节物质的研究,发现植物根与叶的主要有机渗透调节物质为Pro。本研究发现,盐胁迫会使得草地早熟禾幼苗Pro含量上升,而且褪黑素的加入也会使得幼苗Pro含量增加。Pro不仅被认为是植物在盐胁迫下用于调节渗透平衡的关键物质,而且Pro的累积也被认为是植物受盐胁迫伤害程度的一种反应^[34]。因此,本研究中盐胁迫下Pro含量的增加可能是植物受到逆境伤害的反应,此外,一定浓度的褪黑素处理下其含量的再次上升可能是因为外源褪黑素能够缓解盐胁迫下渗透调节物质含量的下降,进而缓解盐毒害^[35]。由于可溶性糖的积累可提高细胞渗透浓度,可溶性蛋白又具有较强的亲水性,因此二者的积累可以提高植物细胞在盐胁迫时的保水能力,防止细胞脱水^[36]。本研究发现,褪黑素浓度为100、200 $\mu\text{mol/L}$ 时能够使得草地早熟禾幼苗可溶性糖和可溶性蛋白上升以抵御盐胁迫,这与Zeng等^[37]关于褪黑素能通过促进可溶性糖和可溶性蛋白等渗透物质的积累,缓解油菜幼苗盐胁迫损伤的研究结果相似。

根据目前的研究结果,100~200 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素对植物的处理获得了最佳的效果^[38]。刘佳奇等^[39]通过研究盐胁迫下褪黑素对小麦(*Triticum aestivum*)种子萌发和幼苗生理特性的影响结果发现100~150 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素的缓解效果最为明显;李嘉文等^[8]通过研究褪黑素对盐胁迫下燕麦(*Avena sativa*)幼苗生长及抗氧化系统的影响时发现当外源褪黑素浓度

为150 $\mu\text{mol/L}$ 在缓解燕麦盐胁迫时作用最大;苏立娜等^[28]在研究外源褪黑素对盐胁迫下紫花苜蓿(*Medicago sativa*)生理及光合特性的影响时发现外源褪黑素浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时对缓解紫花苜蓿受盐胁迫伤害效果最佳。本研究通过相关性分析和灰色关联度分析也同样发现,褪黑素浓度在100、200 $\mu\text{mol/L}$ 时草地早熟禾幼苗能够有效缓解盐胁迫带来的伤害,此外,本研究还发现在该浓度范围内叶施处理的效果更佳更稳定。王慧等^[40]在研究外源褪黑素对于旱胁迫下黑麦草(*Lolium perenne*)和紫花苜蓿抗氧化能力及养分吸收的影响时,也同样发现叶面喷施褪黑素效果好于根施。其原因可能是叶施褪黑素相比于根施能够有更多的褪黑素分子到达靶向位点^[41],而且研究证明植物体内的褪黑素的主要合成部位是叶片中的叶绿体^[42]。因此,在叶施褪黑素时植物叶片可能更易接受褪黑素信号,迅速吸收或储存外源褪黑素从而更快速地启动植物的逆境防御体系,以提高植物的抗逆性。

4 结论

褪黑素处理可有效缓解盐胁迫对草地早熟禾幼苗的伤害,提高草地早熟禾的抗盐性。在100 mmol/L NaCl胁迫下草地早熟禾种子以50 $\mu\text{mol/L}$ 浸种和200 $\mu\text{mol/L}$ 外施处理效果为佳。此外,当褪黑素浓度为100、200 $\mu\text{mol/L}$ 时能够显著促进200 mmol/L NaCl胁迫下草地早熟禾幼苗生长,积累幼苗干物质质量和相对含水量,增加幼苗叶绿素含量,降低幼苗相对电导率和丙二醛含量,使得幼苗脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量上升,并且在该浓度范围内叶施处理的效果更佳。

参考文献:

- [1] 李玉珠,苗佳敏,余江弟,等. BBM转录因子及其在草地早熟禾无融合生殖中的应用前景[J]. 农业生物技术学报, 2021, 29(9): 1808—1816.
- [2] 刘文辉,周青平,颜红波,等. 青海扁茎早熟禾种群地上生物量积累动态[J]. 草业学报, 2009, 18(2): 18—24.
- [3] 聂宇东. 外源肌醇施用对草地早熟禾耐盐性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- [4] 张强,刘宁芳,向佐湘,等. 盐碱胁迫对草地早熟禾生长和生理代谢的影响[J]. 草业学报, 2017, 26(12): 67—76.
- [5] 凌欣闻. 外源甜菜碱对草地早熟禾耐盐性的影响[D]. 北

- 京:北京林业大学,2017.
- [6] 安勐颖. 外源亚精胺对草地早熟禾耐盐性影响的研究[D]. 北京:北京林业大学,2015.
- [7] 林艳艳. 五氨基乙酰丙酸对逆境下草地早熟禾生长的影响[D]. 西安:西北农林科技大学,2017.
- [8] 李嘉文,麻冬梅,苏立娜,等. 外源褪黑素对盐胁迫下燕麦幼苗生长及抗氧化系统的影响[J]. 草地学报,2023,31(2):396—403.
- [9] 王蕊,杨小龙,须晖,等. 高等植物褪黑素的合成和代谢研究进展[J]. 植物生理学报,2016,52(5):615—627.
- [10] Back K, Tan D X, Reiter R J. Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts[J]. Journal of pineal research,2016,61(4):426—437.
- [11] Wang M, Duan S H, Zhou Z C, et al. Foliar spraying of melatonin confers cadmium tolerance in *Nicotiana tabacum* L [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019,170:68—76.
- [12] Ren J H, Yang X X, Zhang N, et al. Melatonin alleviates aluminum-induced growth inhibition by modulating carbon and nitrogen metabolism, and reestablishing redox homeostasis in *Zea mays* L [J]. Journal of Hazardous Materials,2021,423(Pt B):127159.
- [13] 王胜永,孙治国,田浩. 外源褪黑素对盐胁迫下紫花苜蓿光合作用和生理指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2023(5):12—16.
- [14] 牛奎举,金小煜,李慧萍,等. 甘肃野生草地早熟禾萌发期抗旱性鉴定与评价[J]. 草地学报,2016,24(5):1041—1049.
- [15] 董文科. 草地早熟禾抗白粉病机理研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2022.
- [16] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [17] 李建龙. 草坪草抗性生理生态研究进展[M]. 南京:南京大学出版社,2008.
- [18] Bates L S, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water—stress studies [J]. Plant and Soil,1973,39(1):205—207.
- [19] 徐庆国. 草坪学实验实习指导[M]. 北京:中国林业出版社,2015.
- [20] 张海军. 褪黑素处理对氯化钠胁迫下黄瓜种子萌发的影响及其分子机制[D]. 北京:中国农业大学,2016.
- [21] 李雪颖,高志昊,兰剑,等. NaCl胁迫下25份饲用型小黑麦种子的萌发特性及耐盐性评价[J]. 草原与草坪,2023,43(4):65—71.
- [22] 向警,黄倩,鞠春燕,等. 外源褪黑素对盐胁迫下水稻种子萌发与幼苗生长的影响[J]. 植物生理学报,2021,57(2):393—401.
- [23] 杨过,聂圣松,杭俊楠,等. 褪黑素在植物生长发育和逆境响应中的研究进展[J]. 山地农业生物学报,2022,41(6):37—46.
- [24] Wen D, Gong B, Sun S S, et al. Promoting roles of melatonin in adventitious root development of *Solanum lycopersicum* L. by regulating auxin and nitric oxide signaling. [J]. Frontiers in plant science,2016,7:718.
- [25] 魏茜雅,秦中维,梁腊梅,等. 褪黑素种子引发处理提高朝天椒耐盐性的作用机制[J]. 生物技术通报,2023,39(7):160—172.
- [26] 张晓婷,王雪松,贾文飞,等. 植物在盐处理下的研究进展[J]. 北方园艺,2021,477(6):137—143.
- [27] 梁海永,李会平,郑均宝,等. NaCl胁迫对欧洲黑杨组培植株叶片光系统Ⅱ功能的影响[J]. 河北林果研究,2000,15(2):101—104.
- [28] 苏立娜,麻冬梅,李嘉文,等. 外源褪黑素对盐胁迫下两种紫花苜蓿生理及光合特性的影响[J]. 草地学报,2023,31(3):726—732.
- [29] Wang L Y, Liu J L, Wang W X, et al. Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity—induced stress [J]. Photosynthetica,2016,54(1):19—27.
- [30] Shang F Z, Liu R L, Wu W J, et al. Effects of melatonin on the components, quality and antioxidant activities of blueberry fruits [J]. LWT—Food Science and Technology,2021,147:111582.
- [31] Khan M N, Zhang J, Luo T, et al. Seed priming with melatonin coping drought stress in rapeseed by regulating reactive oxygen species detoxification: Antioxidant defense system, osmotic adjustment, stomatal traits and chloroplast ultrastructure perseveration [J]. Industrial Crops & Products,2019,140(C):111597.
- [32] 成铁龙,李焕勇,武海雯,等. 盐胁迫下4种耐盐植物渗透调节物质积累的比较[J]. 林业科学研究,2015,28(6):826—832.
- [33] 刘爱荣,赵可夫. 盐胁迫下盐芥渗透调节物质的积累及其渗透调节作用[J]. 植物生理与分子生物学学报,2005,35(4):389—395.
- [34] 朱金方,陆兆华,夏江宝,等. 盐旱交叉胁迫对柽柳幼苗渗透调节物质含量的影响[J]. 西北植物学报,2013,33

- (2):357—363.
- [35] 王芳,刘燕,王铁兵,等. 外源褪黑素对玉米幼苗盐胁迫的缓解效应研究[J]. 中国草地学报, 2020, 42(5): 14—21.
- [36] 宋家壮,李萍萍,付为国. 水分胁迫及复水对藜草生理生化特性的影响[J]. 草业学报, 2012, 21(2):62—69.
- [37] Zeng L, Cai J S, Li J J, *et al.* Exogenous application of a low concentration of melatonin enhances salt tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2016, 17(2):328—335.
- [38] Sezer İ, Kiremit M S, Öztürk E, *et al.* Role of melatonin in improving leaf mineral content and growth of sweet corn seedlings under different soil salinity levels[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 288:110376.
- [39] 刘佳奇,李丽,杨红红,等. 盐胁迫下褪黑素对小麦种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2022, 42(7):857—863.
- [40] 王慧,王冬梅,张泽洲,等. 外源褪黑素对于旱胁迫下黑麦草和苜蓿抗氧化能力及养分吸收的影响[J]. 应用生态学报, 2022, 33(5):1311—1319.
- [41] Sylvia C. 外源褪黑素通过改变抗氧化酶活性和光合作用相关基因的表达改善咖啡干旱胁迫耐受性[D]. 武汉:中国科学院大学(中国科学院武汉植物园), 2020.
- [42] Zheng X, Zhou J, Tan D X, *et al.* Melatonin improves waterlogging tolerance of *Malus baccata* (Linn.) borkh seedlings by maintaining aerobic respiration, photosynthesis and ROS migration[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8:483.

Effect of melatonin treatment on salt resistance of *Poa pratensis*

ZHANG Yu-juan, CUI Lin-yu, ZHANG Jia-neng, MA Hui-ling, DONG Wen-ke*

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Objective] To investigate the regulatory effect of exogenous melatonin on *Poa pratensis* under salt stress. [Method] This experiment used the *Poa pratensis* ‘Empire’, as the material. The effects of seed soaking and external application of melatonin on seed germination characteristics under salt stress were studied. In addition, different concentrations of melatonin were applied to the leaves and roots of seedlings to evaluate their effects on the growth and physiological characteristics of *Poa pratensis* under salt stress. [Result] The results showed that soaking and external application of melatonin treatment had the best germination effect on *Poa pratensis* seeds under salt stress at concentrations of 50 $\mu\text{mol/L}$ and 200 $\mu\text{mol/L}$ respectively. At concentrations of 100 $\mu\text{mol/L}$ and 200 $\mu\text{mol/L}$, melatonin significantly promoted the growth of *Poa pratensis* seedlings and roots under salt stress, enhanced dry matter accumulation and relative water content, increased chlorophyll content, reduced relative conductivity and malondialdehyde (MDA) content, and elevated the contents of proline, soluble sugars, and soluble protein content of seedlings. Leaf application treatment within this concentration range was the most effective. [Conclusion] In summary, exogenous melatonin concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$ and 200 $\mu\text{mol/L}$ melatonin solution could effectively alleviate the damage of salt stress to *Poa pratensis* seedlings, improving the salt resistance and growth performance of *Poa pratensis*.

Key words: melatonin; *Poa pratensis*; salt resistance; germination characteristics; growth and physiological index; comprehensive analysis

(责任编辑:靳奇峰)